

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1990

Том 36 выпуск 2

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1990

Volume 36 issue 2

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

деления пептидов СММ и биотест с использованием БФМ могут служить критерием интоксикации в клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Либерман Е. А. // Биологические мембраны.— М., 1973.— С. 46—48.
2. Поташев Л. В., Чеминава Р. В., Перелыгин В. Г. // Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных.— Л., 1986.— С. 25—30.
3. Садыков А. С., Салихов Ш. И., Салихова Н. Н. и др. Способ диагностики почечной недостаточности: А. с. 1255933 СССР, 1986.
4. Салихов Ш. И., Мухамедиева Ш. Г., Абдурахманова Ж. А. и др. Способ диагностики почечной недостаточности: А. с. 1240413 СССР, 1986.
5. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. // J. biol. Chem.— 1957.— Vol. 226.— P. 497—509.
6. Bergstrom J., Furst P. // Uremic Toxins — Montreal., 1978.— P. 669—675.

Поступила 31.10.88

PROCEDURES FOR DIAGNOSIS AND CORRECTION OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN PYO-INFLAMMATORY DISEASES OCCURRING IN OBSTETRIC PRACTICE

R. I. Stepanyants, Sh. G. Mukhamedieva, M. A. Li, E. M. Sultanova, I. Kazakov, Sh. I. Salikhov

Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Uzbek SSR, Tashkent.

Content of middle molecular mass peptides was studied in blood of patients with pyo-inflammatory diseases. The peptide fraction was detected exhibiting a membrano-tropic effect, which correlated with the rate of endogenous intoxication. A procedure of autotransfusion of UV-irradiated blood was used in the course of detoxication.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1990

УДК 615.013.83.015.4: [612.35.015.348:577.123].076.9

А. И. Божков, В. Г. Гопкалов, А. И. Скляр, Ц. М. Шерешевская, М. К. Асадова

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА АМНИОЦЕНА НА МЕТАБОЛИЗМ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ КРЫС

НИИ биологии Харьковского университета

Поиск новых биологически активных веществ, обладающих свойствами эндогенных биорегуляторов, является актуальным направлением в современной медицине. Плаценту и амниохорион человека используют как источники биологически активных веществ [7, 8, 10]. Из ткани амниона во ВНИИ химии и технологии лекарственных средств получен препарат амниоцен.

Проблема влияния лекарственных средств на функцию генетического аппарата имеет два аспекта. Во-первых, даже незначительные изменения в функционировании генетического аппарата под влиянием ксенобиотиков могут привести в конечном итоге к существенным перестройкам в системе метаболизма клетки и организма в целом. Во-вторых, испытание медицинских препаратов на функционирование системы реализации генетической информации (репликацию, транскрипцию, процессинг и транспорт РНК в цитоплазму, трансляцию) позволяет ускорить процесс поиска мо-

лекулярных механизмов действия испытуемых веществ.

Целью настоящей работы было изучение влияния амниоцена на скорость синтеза ДНК, РНК и транспорт РНК в цитоплазматические структуры клеток печени крыс.

Методика

Опыты проводили на крысах линии Вистар 2—3-месячного возраста. Препарат амниоцен вводили подкожно за 24 или 48 ч до забоя животных. Частичную гепатэктомию проводили под эфирным наркозом по известному методу [9]. В экспериментах было использовано около 100 животных.

Определение скорости регенерации печени. В этом эксперименте 15 подопытным и 15 контрольным крысам вводили соответственно по 0,6 мл амниоцена и физиологического раствора на 100 г массы тела ежедневно, в 9 ч утра. Животных обеих групп забивали через 2, 6 и 10 дней после частичной гепатэктоми. Печень освобождали от крови, взвешивали и рассчитывали массу печени на 100 г массы тела.

Определение удельной радиоактивности ДНК и РНК клеточных ядер. Подопытным и контрольным животным, голодавшим в течение ночи, вводили внутривенно по 2,96 МБк ^3H -тимидина и по 1,1 МБк ^{14}C -оротовой кислоты на 100 г массы тела. Спустя 40 мин животных забивали декапитацией. Ядра клеток печени выделяли по методу [6]. Из очищенных ядер экстрагировали РНП-частицы по методу [2]. Кислотный гидролиз ДНК проводили после извлечения РНК хроматина по методу [4]. Концентрацию ДНК и РНК соответствующих фракций определяли на спектрофотометре СФ-46 [3]. Радиоактивность ДНК и РНК определяли в диоксановом сцинтилляторе на счетчике Ультра-Бета (Швеция). Удельную радиоактивность выражали в импульсах в мин на 1 мг ДНК или РНК соответственно.

Определение удельной радиоактивности РНК рибосом и пострибосомной фракции. Животным контрольной и опытной групп, голодавшим в течение ночи, вводили внутривенно по 1,1 МБк ^{14}C -оротовой кислоты на 100 г массы тела. Через 40 мин животных забивали. Ядра и митохондрии осаждали центрифугированием при 10 000 g в течение 20 мин при 2—4 °С. Мембраны, содержащиеся в постмитохондриальной фракции, разрушали 1,5 % тритоном X-100. Рибосомы осаждали в присутствии высокой концентрации хлорида магния [11]. В рибосомальной и пострибосомальной фракциях определяли содержание РНК и ее удельную радиоактивность как и в случае РНК хроматина.

Определение скорости транспорта предшественников синтеза нуклеиновых кислот в клетках печени. Животным вводили по 1,1 МБк ^{14}C -оротовой кислоты. Через 20 мин крыс забивали, печень перфузировали холодным раствором сахаразы, клетки печени выделяли по методу [1]. О скорости транспорта судили по количеству включившихся в клетки меченых предшественников за 120 мин. После лизиса клеток выделяли кислоторастворимую фракцию, в которой определяли содержание и удельную радиоактивность, как и в случае нуклеотидов РНК хроматина. Все полученные результаты обрабатывали статистически по методу Стьюдента — Фишера.

Результаты и обсуждение

Через 24 ч после подкожного введения препарата амниоцена intactным крысам линии Вистар 3-месячного возраста в дозе 0,6 мл на 100 г массы тела (терапевтическая доза, увеличенная примерно в 100 раз) не наблюдали изменений удельной радиоактивности ДНК клеток печени (см. таблицу).

Все ксенобиотики по действию на биологические процессы могут быть отнесены к трем различным группам: стимуляторы, ингибиторы и вещества, не оказывающие биологического действия. Можно полагать, что стимуляторы лучше проявят свой биологический эффект в системах с низким уровнем метаболизма, в то время как ингибиторы проявят его в системах с высоким уровнем метаболизма.

Известно, что рост и дифференцировка печени завершаются в относительно ранние периоды онто-

Влияние препарата амниоцена (0,6 мл на 100 г массы тела) на удельную радиоактивность ДНК в клетках интактной и регенерирующей печени крыс и на массу печени после частичной гепатэктомии

Группа	Статистический показатель	Удельная радиоактивность ДНК (в имп/(мин·мг) в печени)		День после операции	Масса печени, г на 100 г массы тела крысы	
		интактная	регенерирующая		контрольная группа	опытная группа
Контрольная	\bar{x}	3067	509 000	2-й	2,02	2,25
	$\pm S_{\bar{x}}$	± 395	$\pm 43 500$		$\pm 0,05$	$\pm 0,24$
Опытная	ρ				$>0,05$	
	\bar{x}	4383	325 000	6-й	2,25	2,52
	$\pm S_{\bar{x}}$	± 405	$\pm 55 000$		$\pm 0,60$	$\pm 0,37$
	ρ				$>0,05$	
	n	4	4	10-й	2,46	2,50
	ρ	$>0,05$	$<0,05$		$\pm 0,15$	$\pm 0,17$
					$>0,05$	

генеза [5] и удельная радиоактивность ДНК в печени 3-месячных крыс составляет около 0,02 % по сравнению с таковой новорожденных. Отсутствие влияния амниоцена на скорость синтеза ДНК в интактных клетках печени крыс 3-месячного возраста может указывать на отсутствие стимулирующего действия этого препарата на скорость пролиферации в печени, но не исключает наличия ингибирующего эффекта амниоцена на этот процесс. Экспериментальную проверку предположения о возможном наличии ингибирующего действия препарата на синтез ДНК осуществляли на модели регенерирующей печени крыс. Удельная радиоактивность ДНК в печени 3-месячных крыс, подвергнутых частичной гепатэктомии, увеличивалась по сравнению с контролем более чем в 100 раз (см. таблицу). Введение оперированным животным амниоцена в дозе 0,6 мл на 100 г массы тела через 12 ч после операции приводило к уменьшению удельной радиоактивности ДНК печени.

Таким образом, биологический эффект, вызываемый амниоценом, может определяться функциональным состоянием системы. Так, амниоцен в дозе 0,6 мл на 100 г массы тела не влияет на скорость синтеза ДНК в интактных клетках печени и несколько угнетает этот процесс в активно пролиферирующей ткани.

Такой характер действия амниоцена на процесс синтеза ДНК может привести к замедлению скорости восстановления массы печени после частичной гепатэктомии. Крысам опытной группы вводили амниоцен в указанной выше дозе каждые 24 ч. Контроль за изменением массы печени осуществляли через 2—6 и 10 дней после частичной гепатэктомии. Изменение массы печени после операции было одинаковым в контрольной и опытной группах животных (см. таблицу). Полученный результат указывает, что регенерация печени в случае введения амниоцена может осуществляться за счет гипертрофии клеток. Возможно, что амниоцен несколько смещает время прохождения S-периода клеточного цикла; это в конечном итоге не сказывается на увеличении массы органа.

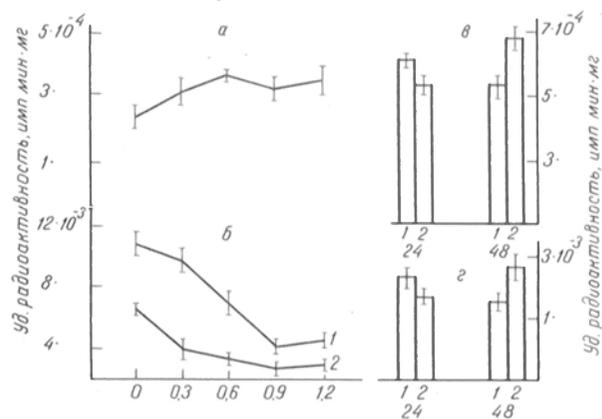
Препарат амниоцен не оказывал влияния на удельную радиоактивность РНК во фракции хроматина печени крыс линии Вистар в широком диапазоне испытуемых доз (см. рисунок). Исследование влияния достаточно больших доз препарата на скорость транскрипции позволяет утверждать, что амниоцен не влияет на функциональную активность генома печени крыс.

Еновь синтезированная РНК подвергается про-

цессингу и дальнейшему транспорту в цитоплазму. Фракция РНК, выделенная из ядер экстракцией буферным раствором с 0,14 М NaCl, содержит вновь синтезированную гетерогенную РНК, которую можно рассматривать как определенный этап в процессе созревания вновь образованной РНК [2].

Препарат амниоцен несколько снижает удельную радиоактивность фракции гетерогенной РНК ядер (5500 ± 420 в контроле против 4500 ± 215 в опытной группе). Эти вызванные амниоценом изменения сказывались еще в большей степени на процессе транспорта РНК в цитоплазму. О скорости транспорта РНК в цитоплазму судили по скорости включения вновь синтезированной РНК в РНП-частицы цитоплазмы. Спустя 24 ч после введения препарата было обнаружено, что он приводит к достоверному снижению скорости транспорта рРНК, тРНК и мРНК (см. рисунок).

Исследование удельной радиоактивности РНК в составе рибосом, а также пострибосомных частиц, включающих мРНК и тРНК, через 48 ч после введения амниоцена в дозе 0,6 мл на 100 г массы тела животных показало некоторое увеличение скорости транспорта РНК в цитоплазму (см. рисунок). Эти результаты указывают на то, что спустя 48 ч после инъекции препарата его действие на исследуемый показатель полностью прекращается.



Удельная радиоактивность РНК хроматина (а) и цитоплазматических структур (б) РНК пострибосомальной фракции (1) и РНК рибосом (2) через 24 ч после введения разных доз амниоцена. Изменение удельной радиоактивности РНК пострибосомальной фракции (а) и рибосомной фракции (б) под влиянием амниоцена в дозе 0,6 мл на 100 г массы тела (2) по сравнению с контролем (1) через 24 и 48 ч.

По оси абсцисс: для а и б — доза препарата, мл на 100 г массы тела; для а и б — время, ч; по оси ординат — удельная радиоактивность, имп/(мин·мг).

Таким образом, препарат амниоцен не оказывал влияния на скорость синтеза РНК в интактных клетках печени, но угнетал скорость транспорта вновь образованной РНК в цитоплазму. Такой характер действия препарата амниоцена на этапы реализации генетической информации позволяет полагать, что биологический эффект амниоцена не вызван прямым его действием на генетический аппарат клетки, а опосредован воздействием на другие регуляторные системы клетки. Учитывая то, что изменения в регуляции скорости транспорта РНК из ядра в цитоплазму (наблюдаемые в эксперименте) могут быть обусловлены мембранными эффектами в регуляции этого процесса, можно ожидать, что амниоцен оказывает мембранотропное действие.

В связи с этим представляло интерес исследовать влияние амниоцена на скорость транспорта предшественников синтеза РНК в клетки печени крыс. Было обнаружено, что через 20 мин после введения ^{14}C -оротовой кислоты контрольным животным удельная радиоактивность пула меченых предшественников в клетках печени составила $170\,000 \pm 8000$ имп/мин на 1 мг; у животных, получавших препарат за 24 ч до забоя, она была достоверно выше таковой в контрольной группе ($220\,000 \pm 9000$ имп/мин на 1 мг). Так как скорость транспорта предшественников в клетки в значительной степени определяется состоянием мембранной системы, полученные результаты могут служить косвенным подтверждением мембранной активности амниоцена.

Таким образом, препарат амниоцен не оказывал влияния на скорость синтеза ДНК и РНК в интактных клетках печени крыс и несколько уменьшал удельную радиоактивность ДНК в регенерирующей печени через 24 ч после операции, но не влиял на скорость восстановления массы регенерирующей печени. Исследуемый препарат угнетал скорость транспорта рРНК, мРНК и тРНК и несколько увеличивал скорость транспорта предшественников синтеза нуклеиновых кислот в клетках печени. Обнаруженные особенности влияния амниоцена на систему реализации генетической информации указывают, что его действие на генетическую систему может быть опосредовано влиянием на мембранный аппарат клетки.

Исследование влияния амниоцена на основные этапы реализации генетической информации позволило выявить отсутствие влияния его на скорость транскрипции в интактных клетках и высказать предположение о возможном механизме действия этого препарата, связанного с индуцированным изменением мембран клетки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гринчишин В. П., Винарчук М. П., Осипова Л. А. // Цит. и генет.— 1981.— Т. 15, № 2.— С. 21—26.
2. Самарина О. П., Кричевская А. А., Молнер Я. и др. // Молекул. биол.— 1967.— № 1.— С. 129—141.
3. Спирин А. С. // Биохимия.— 1958.— Т. 23.— С. 656—662.
4. Трудолобова М. Г. // Современные методы в биохимии.— М., 1977.— С. 313—316.
5. Шабалкин И. П. // Цитология.— 1977.— № 5.— С. 474—477.
6. Blobel G., Potter V. R. // Biochim. biophys. Acta.— 1968.— Vol. 166.— P. 48—57.
7. Burgos H. // Europ. J. clin. Invest.— 1986.— Vol. 16.— P. 486—493.

8. Cukrova V., Hrkal Z. // J. Chromatogr.-Biomed. appl.— 1987.— Vol. 413.— P. 242—246.
9. Higgins G., Anderson R. N. // Arch. Path.— 1931.— Vol. 12.— P. 186—220.
10. McLachlan R. J., Healy D. L., Robertson D. M. et al. // Biochem. biophys. Res. Commun.— 1986.— Vol. 140, N 2.— P. 485—490.
11. Palmier R. D. // Biochemistry (Wash.).— 1974.— Vol. 103.— P. 611—617.

EFFECT OF AMNIOCEN ON METABOLISM OF NUCLEIC ACIDS IN RAT LIVER CELLS

A. I. Bozhkov, V. G. Gopkalov, A. I. Sklyar, T. M. Shereshevskaya, M. K. Asadova

Institute of Biology, State University, Kharkov.

Rates of DNA and RNA synthesis as well as transport of RNA into cytoplasmic structures of rat liver cells were studied after administration of amniocen preparation. The drug did not affect the rate of DNA and RNA synthesis in intact rat liver cells, while specific radioactivity of DNA was decreased in regenerating liver tissue 24 hrs after hepatectomy. Amniocen inhibited the rate of rRNA, mRNA and tRNA transport into cytoplasm but contributed to elevated penetration of nucleic acid precursors into rat liver cells. Effect of the drug on cell membrane system appears to be responsible for its biological action related to realization of genetic information.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1990

УДК 617-089.166-059:615.356]-07:616.151.5

С. Л. Галян, А. Ш. Бышевский, В. М. Шафер, В. С. Соловьев, С. Н. Ибрагимова

ГЕМОКОАГУЛЯЦИОННЫЕ СДВИГИ ПРИ ОПЕРАЦИОННОЙ ТРАВМЕ И ЭКЗОГЕННОЙ ТРОМБОПЛАСТИНЕМИИ НА ФОНЕ ВИТАМИНИЗАЦИИ

Кафедра биологической химии Тюменского медицинского института

Повреждения тканей, сопровождающиеся тромбопластинемией, вызывают активацию свертывания с последующей гипокоагулемией [4, 14], обусловленной потреблением прокоагулянтов [14] и противосвертывающей реакцией [6, 7]. Эти сдвиги можно ослабить путем назначения антикоагулянтов или дезагрегантов, что не всегда оказывает благоприятное влияние на течение заболевания [5, 18]. Напротив, лечебные дозы некоторых витаминов, не вызывая побочных эффектов, позитивно влияют на гемостаз. Так, витамин А повышает антитромбиновую активность [20] и ускоряет тромболитический [3], витамин Е — содержание гепарина в крови [19], витамины С и Р снижают сосудистую проницаемость, давая гемостатический эффект [9, 12], витамин РР активизирует фибринолиз [1]. Данные об антиоксидантной активности витаминов А, Е, РР и мембранопротекторном действии витаминов Р и С усиливают интерес к изучению их связи с гемокоагуляцией, так как интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состояние сосудистой стенки коррелируют со свертывающей активностью крови [11].

В настоящей работе в эксперименте изучали влияние витаминов А, Е, С, Р и РР в разных сочетаниях на интенсивность гемокоагуляционных сдвигов и изменения ПОЛ плазмы и эритроцитов в условиях операционной травмы или экзогенной тромбопластинемии.